AAB04T

使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。

AAB04T　　2007年10月作成（第1版）

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：21500AMY00014000

淋菌核酸キット

DNAプローブ「FR」－ゴノレア

淋菌検出用

■全般的な注意

1. 本キットは、体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 添付文書に記載されている操作法を守ってください。この操作法以外の方法による検出結果の信頼性は保証いたしかねます。
3. 検体にはヒト分泌物または擦過物を用いますので、感染の恐れがあるものとして取扱い、測定操作には使い捨て手袋や保護メガネなどを着用し、必要に応じて安全キャビネット内で操作してください。検体が手袋などに付着した場合はただちに新しいものに取りかえてください。
4. 試薬が誤って目や口に入った場合または皮膚に付着した場合は、ただちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。
5. 人体への投与はできません。
6. 本キットでは当社指定の化学発光測定装置を使用します。他の測定装置をご使用になった場合は測定結果の信頼性を保証いたしかねます。なお、これらの測定装置の使用法については、同装置の添付文書および取扱説明書をご覧ください。
7. 測定結果に基づく臨床診断は臨床症状や他の検査結果などから担当医師が総合的に判断してください。

■形状・構造等（キットの構成）

	構成試薬名	容量	100回分
1	プローブ試薬A（凍結乾燥品）（P）〔アクリジニウムエステル　標識 ナイセリア　ゴノレア　DNAプローブ〕	6mL 相当	2瓶
2	プローブ試薬B（液状）（HB）	6mL	2瓶
3	分離液A（液状）（S）	100mL	1瓶
4	分離液B（液状）（SR）	9mL	1瓶
5	洗浄液（液状）（W）	200mL	3瓶
6	陽性コントロール（液状）（PCT）	3mL	1瓶
7	陰性コントロール（液状）（NR）	7mL	1瓶

［付属品］
シーリングカード（1包）

■使用目的

ヒト分泌物中のナイセリア　ゴノレア　リボソームRNAの検出
（淋菌感染の診断の補助等）

■測定原理

本キットは、DNA−RNAハイブリダイゼーションに基づき、淋菌のリボソームRNAを検出するものです。用いるDNAプローブは、化学発光物質であるアクリジニウムエステルで標識した淋菌のリボソームRNAに相補的な1本鎖DNAです。検体よりリボソームRNAを抽出しDNAプローブと反応させ、形成したDNA−RNAハイブリッドを常磁性鉄微粒子（マグネティックパーティクル）に吸着させ、未反応のDNAプローブと分離します。分離した後、DNA−RNAハイブリッドの化学発光を測定し、その測定値より陽性、陰性を判定します。

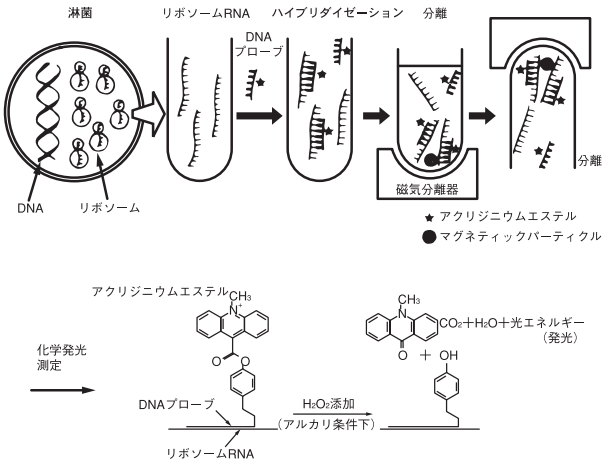

図1．測定原理

■操作上の注意

1. 測定試料の性質、採取法

1） 検体には、必ずヒト分泌物または擦過物を用いてください。それ以外の検体では正しい測定値が得られません。
2） スワブ検体の採取には、指定のスワブ採取セット（STDスワブ（男性用）、STDスワブ（女性用））をご使用ください。
3） まれに、ピペットで採取するには粘性の強い検体がありますが、そのような検体は常温にて、検体輸送用チューブを十分に攪拌することにより採取可能な状態になります。

2. 妨害物質、妨害薬剤

1） 検体への血液混入について、検体抽出液1mLに対して80μL以上の血液が混入した場合にはアッセイに影響を与えることがありますので、本キットによる測定は避けてください。また、得られた結果は参考値としてください。
2） 本キットは多量の婦人用潤滑剤（ゼリー）や殺精子剤の影響を受けることがあります。
3） 投与された薬剤による本キットへの影響は不明です。

3. 交差反応性

1） 本キットにおいて陽性と判定された検体は、淋菌の感染を強く疑わせるものですが、耐性菌を判別するものではありません。
2） 本キットに用いられているDNAプローブの標的部位に変異の生じた亜株が出現した場合、本キットでは検出できないこともあります。

4. 操作上の留意事項

1） 冷蔵庫から取り出したキットは常温に戻してから使用してください。
2） 分取する際、検体は十分攪拌を行ってください。
3） 陰性コントロールおよび陽性コントロールは測定毎にキットに添付のコントロールを使用し、同時に測定してください。
4） ハイブリダイゼーションや分離反応は温度および時間管理を十分に行ってください。
5） 試薬などの分注や洗浄などの操作は一定間隔、同一の順序にするなど、常に同一条件で行ってください。
6） 洗浄液デカント後は1時間以内に化学発光測定装置で測定してください。洗浄液デカント後の試験管は測定まで常温で保存してください。

5. その他

1） 検体および試薬の分注には清浄なチップを使用し、また、分注時には試薬間のコンタミネーションに十分注意してください。
2） 使用後の器具は2．5%以上の次亜塩素酸ナトリウム液に15分以上浸し、その後水洗いしてください。
3） 測定装置の使用に際しては、必ず測定装置の添付文書、取扱説明書を読んでください。

■用法・用量（操作方法）

1. 試薬の調製法

1） プローブ溶液の調製
プローブ試薬B（HB）をキットから取り出し、10秒間攪拌します。その後60±1℃の水浴で混和しながら3～4分インキュベートします。再び10秒間攪拌し、均一な溶液とします。その6mLをプローブ試薬A（P）に分注し、常温にて2分間静置後、よく攪拌してプローブ溶液として使用してください。

（注意） **プローブ溶液は2～8℃保存で3週間安定です。2～8℃で保存していたプローブ溶液は、10秒間攪拌後、60±1℃の水浴で2分間混和してから使用してください。**

2） 分離液の調製
分離液A（S）および分離液B（SR）は下表を参考とし、20：1の割合で混和して使用してください。

（例）

検体数		分離液A	分離液B
8	＋2	10mL	0．5mL
18	＋2	20mL	1．0mL
48	＋2	50mL	2．5mL
98	＋2	100mL	5．0mL

分離液Aの量（mL）＝検体数（コントロールを含む）＋2
分離液Bの量（mL）＝分離液Aの量（mL）の20分の1

（注意） 調製した分離液は常温保存で6時間安定です。この時間を過ぎたものは使用しないでください。

3） その他の試薬
陽性コントロール（PCT）、陰性コントロール（NR）および洗浄液（W）はそのまま使用してください。

2．必要な器具・器材

器具・器材など	規格など
ポリスチレン製試験管	12×75mm リーダー用チューブ（別売品）など
試験管ミキサー	
水浴	60℃×1台
マイクロピペット	100μL分注用
フィルター付チップ	100μL分注用
連続分注器／チップ	100μL、1mL分注用
オートピペット	1mL、6mL
マグネティックセパレーションユニット	試験管ラックとマグネティックセパレーションユニット（磁石部分）をセットしたもの：別売品
化学発光測定装置	リーダーI、リーダー50／450など：別売品
リーダー用試薬 （リーダー用試薬I、 リーダー用試薬II）	別売品
安全キャビネット	
検体採取器材	STDスワブ（男性用）、 STDスワブ（女性用）：別売品

3．測定法

1） 検体の採取方法
検体の採取には必ず専用のSTDスワブ（男性用）またはSTDスワブ（女性用）を使用してください。他のスワブや検体輸送用チューブで検体を採取および保存した場合は、本キットでの測定はできません。

（1） 男子尿道スメア検体の採取方法
① 検体採取1時間前までに排尿を済ませてください。
② 分泌物が分泌されている場合は、それを直接スワブで採取してください。
③ 分泌物が分泌されていない場合は、外尿道口部よりスワブを時計方向にゆっくり回転させ、2～4cmまで徐々に挿入します。
④ スワブを2～3秒間そのままの状態に置き、擦過物を採取した後、スワブを注意して抜き取ります。
⑤ 検体を採取したスワブを専用の検体輸送用チューブに入れます。
⑥ スワブの軸を検体輸送用チューブの高さに合わせて折ります。この際、液が飛散しないように注意してください。
⑦ スワブを入れたまま検体輸送用チューブにしっかりとキャップを閉め、ラベルに必要事項を記入します。

（2） 子宮頸管スメア検体の採取方法
① 1本目のスワブで子宮頸管とその周辺の過剰な粘液を取り除きます。このスワブは廃棄してください。
② 2本目のスワブを子宮頸管内に1～1．5cm挿入し、時計方向に10～30秒間ゆっくり回転させ、擦過物を採取します。
③ 検体を採取したスワブの先が膣粘液などに触れないよう注意しながら取り出します。
④ 検体を採取したスワブを専用の検体輸送用チューブに入れます。
⑤ スワブの軸を検体輸送用チューブの高さに合わせて折ります。この際、液が飛散しないように注意してください。
⑥ スワブを入れたまま検体輸送用チューブにしっかりとキャップを閉め、ラベルに必要事項を記入します。

（注意） 採取した検体は、2～25℃の保存で7日間安定です。長期間保存の場合は、3．測定法－1）検体の採取方法に従って採取した後、試験管ミキサーで5秒間撹拌し、管壁にスワブの先端を押し付けて液を絞り出し、スワブを捨ててから－70～－20℃で凍結保存してください。

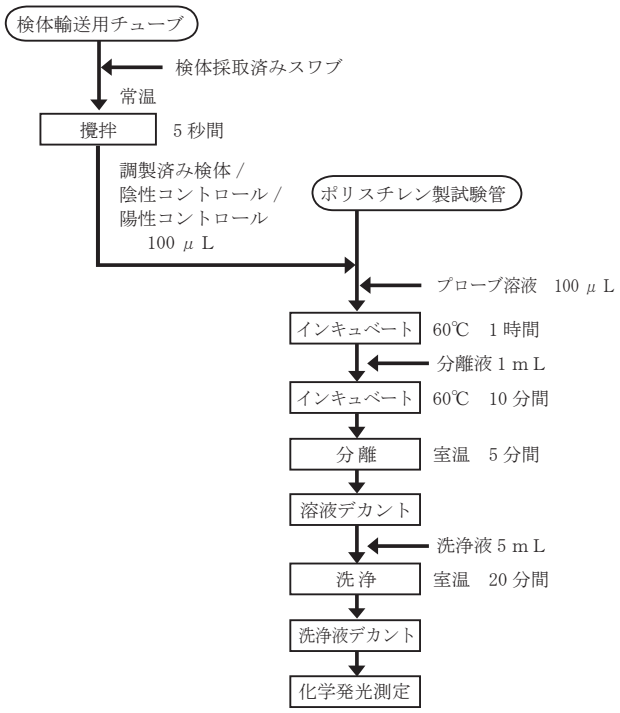

図2．測定操作法概略図

2） 操作法

（1） 検体の調製法
① 検体はアッセイ前に常温に戻します。
② スワブの入った検体輸送用チューブを試験管ミキサーで5秒間撹拌します。
③ 検体輸送用チューブの管壁にスワブの先端を押し付け、液を絞り出し、スワブを捨ててください。
④ 検体を分注する前に5秒間試験管ミキサーで撹拌します。

（2） ハイブリダイゼーション

（注意） ハイブリダイゼーションや分離反応は温度および時間管理を十分に行ってください。

① ポリスチレン製試験管（12×75mm）を陰性コントロール（3本）、陽性コントロール（1本）および検体数分用意し、符号などをつけ、マグネティックセパレーションユニット（試験管ラック部分）にセットします。それぞれの試験管に各コントロールまたは検体を100μLずつ分取します。
② プローブ溶液100μLを連続分注器で各試験管の底部に分注します。

（注意） チップの先が試験管の口や壁面に触れないように注意してください。

③ 各試験管をシーリングカードでカバーし、3～5回振とう混和した後、60±1℃の水浴で1時間インキュベートします。

（3） 分離・洗浄
① 試験管ラックを水浴から取り出し、シーリングカードをとります。
② 各試験管によく混和した分離液1mLを分注し、シーリングカードでカバーした後に、3～5回強めに振とう混和します。
③ 60±1℃の水浴で10分間インキュベートします。
④ 試験管ラックを水浴から取り出し、シーリングカードをとり、マグネティックセパレーションユニット（磁石部分）にセットし、常温で5分間静置後、マグネティックセパレーションユニットごと持ち、デカンテーションにより溶液を捨てます。そして吸水紙に5秒間ずつ3回ブロットし、試験管の口に付着している溶液を除きます。

（注意） このとき、試験管ラックはマグネティックセパレーションユニットからはずさないようにしてください。

⑤ 試験管ラックをマグネティックセパレーションユニットに設置したままで、試験管の口まで（約5mL）洗浄液を満たします。そして、常温に20分間静置します。
⑥ マグネティックセパレーションユニットごと持ち、デカンテーションし、洗浄液を捨てます。

（注意） このとき、吸水紙へのブロットはしません。

⑦ マグネティックセパレーションユニットからはずした試験管ラックを試験管ラックごと撹拌し、懸濁液とします。

（注意） 試験管には約50～100μLの懸濁液が残ります。

（4） 検出
① 化学発光測定装置（リーダーI、リーダー50またはリーダー450など）で発光強度（RLU：Relative Light Unit）を測定します。なお、化学発光測定装置につきましては、装置の取扱説明書をご覧ください。
② 湿らせたペーパータオルで試験管の外側を拭きます。化学発光測定装置にセットする際に常磁性鉄微粒子（マグネティックパーティクル）が完全に懸濁しているか確認してください。
③ まず陰性コントロール3本、次に陽性コントロール1本の順に測定し、その後検体を測定します。

（注意） 測定の順序を間違えると、測定結果が正しく判定されません。

■測定結果の判定法

1. 結果の計算

DNAプローブ「FR」－ゴノレアの測定結果は検体のRLUから陰性コントロール3本の平均RLUを引いた値となります。

(例)

陰性コントロール平均RLU＝（65RLU+71RLU+80RLU）
／3＝72RLU

検体値＝900RLU

測定値＝900RLU－72RLU＝828RLU　POS

化学発光測定装置は上記の計算を行い、測定値を表示し、陽性（POS）、陰性（NEG）の判定をします。

2. 判定

陽性：300RLU以上

陰性：300RLU未満

3. 判定上の注意

1） 250～350RLUの範囲を示した検体については、再検査することをお薦めします。

2） 感染があっても感染の時期、検体採取部位、検体採取方法などによっては検査結果が陰性の場合があります。測定結果に基づく臨床診断は臨床症状や他の検査結果などから担当医師が総合的に判断して行ってください。

■臨床的意義

Neisseria gonorrhoeae（淋菌）はグラム陰性の双球菌で、古くからの性感染症病原菌として知られています。臨床的には尿道炎および子宮頸管炎などの泌尿生殖器感染症の他､咽頭など他部位における淋菌感染症も問題となっています[1]。

従来、淋菌の検出には培養法やエンザイムイムノアッセイ法が用いられていましたが、前者は検体の輸送中における菌の死滅の問題があり、また後者では抗体の特異性が十分でなく、正確な診断法が求められていました[2]。

本キットは淋菌のリボソームRNAを標的とした液相ハイブリダイゼーション法に基づく、DNAプローブを用いた特異的な淋菌検出法です[3,4,5]。DNAプローブには化学発光物質であるアクリジニウムエステルが標識されており、反応終了後、化学発光測定装置（リーダーⅠ、リーダー50またはリーダー450など）にてこの化学発光を測定し判定します。

■性能

1. 性能

1） 感度

（1） 陰性コントロールを試料として測定するとき、その測定値は20～200RLUの範囲を示します。

（2） 陽性コントロールを試料として測定したときのRLUと、同時に測定した陰性コントロールのRLUとの差は600以上を示します。

2） 正確性

陽性コントロールを試料として5回同時に測定するとき、RLUの平均値は620RLU以上を示します。

3） 同時再現性（併行精度）

陽性コントロールを試料として5回同時に測定するとき、RLUの変動係数（CV値）は15%以下を示します。

4） 最小検出感度[3]

本キットの測定可能最少菌数は約1×10^3 CFUです。

2. 相関性試験成績[5, 6]

本キットと培養法との比較を表に示します。

		培養法		
		陽性	陰性	合計
本キット	陽性	61	2	63
	陰性	0	135	135
	合計	61	137	198

主要文献5および6の相関性データを集計

感　度（%）＝（61／61）×100＝100%

特異度（%）＝（135／137）×100＝98.5%

有効度（%）＝（61+135）／198×100＝98.9%

■使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上（危険防止）の注意

1） 検体には、ヒト分泌物または擦過物を用いますので、HIV、HBVおよびHCVなどに感染の恐れがあるものとして、注意して取扱ってください。使い捨て手袋や保護メガネなどを着用し、安全キャビネット内で操作してください。検体が手袋などに付着した場合はただちに新しいものに取りかえてください。

2） 検体および試薬を分注する際にピペットは口で吸わないでください。また、検体および試薬を取扱う際には使い捨て手袋、防護メガネ、白衣などを着用してください。

3） 試薬が誤って目や口に入った場合または皮膚に付着した場合は、ただちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

2. 使用上の注意

1） キットは、必ず2～8℃で保存し、凍結はしないでください。

2） 使用期限（外箱に記載）が過ぎたキットは使用しないでください。

3） 異なる製造番号（外箱に記載）のキットと組み合わせて使用しないでください。

3. 廃棄上の注意

1） 検体の残り、検体が含まれている反応液、検体が付着しているピペットチップなどは、121℃、20分間のオートクレーブによる滅菌または2.5%次亜塩素酸ナトリウム液による処理など、廃棄物の処理および清掃に関する法律に基づく感染性廃棄物処理マニュアルに従って処理した後廃棄してください。

2） 分離液A（S）、分離液B（SR）および洗浄液（W）にはアジ化ナトリウムが含まれていますので、廃棄する場合には多量の水とともに流してください。アジ化ナトリウムを含む液を長期間にわたって廃棄しますと、配水管が金属の場合、爆発型の金属アジドを生成することがあります。

3） その他の試薬を廃棄する場合は、多量の水で流してください。

4） プラスチックおよびガラスの試薬容器は廃棄物の処理および清掃に関する法律に従って処理してください。

■貯蔵方法・有効期間

1. 貯蔵方法　；　2～8℃

2. 有効期間　；　1年

■包装単位

1キット　100回分

■主要文献

1. 小島弘敬　：JOHNS, 7 (3) : 45-53, 1991.
2. 小島弘敬ら：臨床と微生物, 18 (1) : 19-26, 1991.
3. 五島瑳智子ら：臨床と微生物, 19 (4) : 105-111, 1992.
4. 松田静治ら：日本性感染症学会誌, 5 (1) : 56-62, 1994.
5. 岡崎武二郎：臨床と微生物, 19 (2) : 115-119, 1992.
6. 市瀬正之ら：臨床と微生物, 19 (4) : 97-103, 1992.

■問い合わせ先

富士レビオ株式会社　お客様コールセンター

TEL : 0120-292-832

FAX : 03-5695-9234

製造販売元

富士レビオ株式会社

東京都中央区日本橋浜町2-62-5

製造元

Gen-Probe Incorporated